

Penelitian

Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague-Dawley

(The Profile of Normal Blood Pressure Laboratory Rat (*Rattus norvegicus*)
Strain Wistar and Sprague-Dawley)

Setyo Widi Nugroho¹, Kanti Rahmi Fauziyah², Dondin Sajuthi^{2,3}, Huda S Darusman^{2,3,*}

¹Departemen Bedah Saraf, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo,
Jl. Diponegoro No. 71, Jakarta Pusat

²Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Jl. Agathis Raya Kampus IPB Darmaga

³Pusat Studi Satwa Primata, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, IPB, Jl. Lodaya II No.3 Bogor

*Penulis untuk korespondensi: hudada@apps.ipb.ac.id

Diterima 10 Agustus 2017, Disetujui 12 Februari 2018

ABSTRAK

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan coba yang digunakan untuk penelitian biomedik. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan nilai tekanan darah normal tikus putih dengan galur (Wistar dan Sprague-Dawley) dan jenis kelamin yang berbeda melalui pengukuran tekanan darah *non-invasive*. Pengukuran tekanan darah dengan menggunakan instrumen CODA[®] pada 20 ekor tikus putih. Profil tekanan darah yang diukur meliputi tekanan darah sistolik, diastolik, tekanan arteri rata-rata, denyut jantung, dan aliran darah pada ekor. Nilai tekanan darah sistolik, diastolik, dan tekanan arteri rata-rata pada galur Sprague-Dawley lebih tinggi secara signifikan ($P<0.05$) dibandingkan Wistar. Tikus putih galur Sprague-Dawley jantan memiliki profil tekanan darah diastolik dan tekanan arteri rata-rata yang lebih tinggi secara signifikan ($P<0.05$) dibandingkan betina. Galur Wistar jantan menunjukkan profil tekanan darah yang lebih tinggi dibandingkan betina namun tidak berbeda secara signifikan ($P>0.05$). Sprague-Dawley jantan menunjukkan hasil tekanan darah diastolik dan tekanan arteri rata-rata yang lebih tinggi secara signifikan ($P<0.05$) dibandingkan Wistar jantan. Studi ini menekankan pentingnya memilih ras dan jenis kelamin hewan coba tikus dalam studi kardiovaskuler.

Kata kunci: *non-invasive blood pressure*, tekanan darah, *rattus norvegicus*, sprague-dawley, wistar

ABSTRACT

The laboratory rat or Norway rat (*Rattus norvegicus*) is an experimental animal in biomedicine research. The objectives of this research were to describe the profile of normal blood pressure among difference strain (Wistar and Sprague-Dawley) and sex with non-invasive blood pressure. The measurement of blood pressure utilized CODA[®] instrumental apparatus and applied on twenty laboratory rats which further differed in breed and sex. The profile of blood pressure that measured were systolic, diastolic, mean arterial pressure, heart rate and blood flow. The blood pressure of systolic, diastolic, and mean arterial pressure on Sprague-Dawley rats showed were significantly higher than Wistar breed. Sprague-Dawley male rats showed a higher result with significantly different ($P<0.05$) on diastolic blood pressure and mean arterial pressure than female's conspecifics. Sprague-Dawley male showed a significantly higher result ($P<0.05$) on diastolic blood pressure and mean arterial pressure than Wistar male. The research suggests an importance of breed and sex as a background for cardiovascular study.

Keywords: blood pressure, non-invasive blood pressure, *rattus norvegicus*, sprague-dawley, wistar

PENDAHULUAN

Penelitian adalah kegiatan yang dilakukan berdasarkan kaidah dan metode ilmiah secara sistematis untuk memperoleh informasi, data, dan keterangan dari subjek terkait, dengan pemahaman teori serta pembuktian asumsi atau hipotesis. Hasil yang didapat merupakan kesimpulan yang dapat diaplikasikan atau menjadi tambahan pengetahuan bagi kemajuan ilmu pengetahuan (KEPK, 2007). Penelitian kesehatan dapat dilaksanakan secara *in vitro* dan *in vivo*. Teknik *in vivo* merupakan penelitian sebelum diaplikasikan kepada manusia atau primata lainnya yang menggunakan bahan hidup seperti hewan coba dan biakkan jaringan (KNEPK, 2006). Hewan coba merupakan setiap hewan yang digunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan standar dasar yang diperlukan dalam sebuah penelitian (Hau & Hoosier, 2003).

Rodensia seperti tikus, merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian. Tikus digunakan sebagai hewan model untuk analisis biomedis contohnya penyakit kardiovaskular, metabolik, neurologik, perilaku, kanker, dan ginjal (Suckow *et al.*, 2006). Tikus merupakan hewan model yang baik untuk penyakit kardiovaskular terutama hipertensi dan stroke (Iannaccone & Jacob, 2009). Hipertensi merupakan suatu keadaan dimana terjadi peningkatan tekanan darah di atas normal, kondisi ini dapat mengakibatkan peningkatan morbiditas dan mortalitas (Sherwood, 2007).

Penelitian mengenai hipertensi atau gangguan terhadap tekanan darah banyak dilakukan menggunakan hewan coba tikus. Hal ini dikarenakan tikus memiliki sistem faal yang mirip dengan manusia, tersedia dalam jumlah yang banyak, harga yang ekonomis dan galur yang bervariasi (Johnson, 2012). Tikus yang sering digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dan Sprague-Dawley. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai tekanan darah normal tikus putih. Pentingnya mengetahui data tekanan darah yang akurat berdasarkan perbedaan galur dan jenis kelamin pada tikus putih, digunakan sebagai data latar belakang suatu penelitian serta pedoman dalam pemilihan hewan coba.

BAHAN DAN METODE

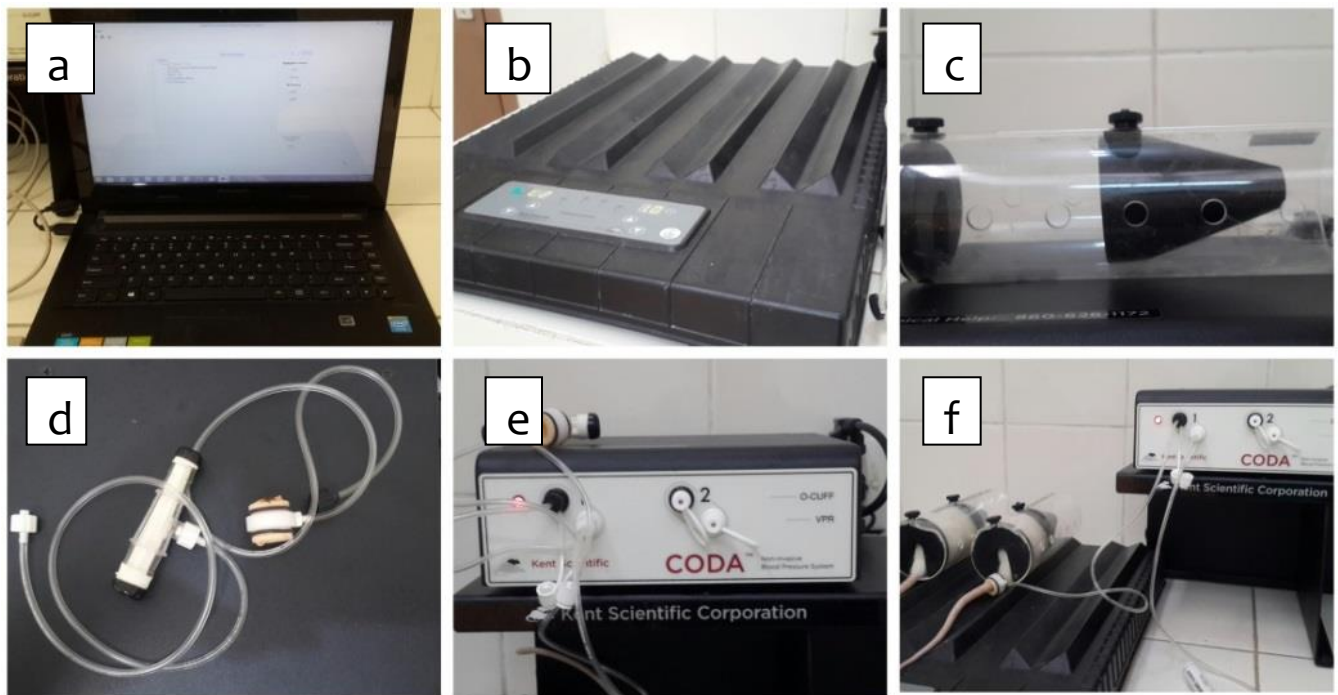
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar dan Sprague-Dawley dari PT. Indo Anilab Bogor, serbuk gergaji, air (*ad libitum*),

dan pakan tikus komersial Indofeed™ Bogor dengan pemberian harian sebesar 10% dari bobot badan tikus. Penelitian ini telah memenuhi kaidah etika penelitian dari Komisi Kesejahteraan Hewan RSHP IPB. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus (kotak plastik dan kawat penutup), botol minum tikus, laptop, alat pengukur tekanan darah non invasif (CODA®, Kent Scientific, USA), kain lap, dan alat pengukur suhu (*infrared thermometer*).

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian ini adalah 10 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dan 10 ekor tikus putih galur Sprague-Dawley. Umur tikus yang digunakan adalah 10 minggu dengan bobot badan 180-280 gram. Tikus dipelihara didalam kotak plastik berukuran 30 cm×20 cm×20 cm dengan kawat penutup yang dilengkapi dengan botol minum diatasnya. Serutan kayu diberikan sebagai alas tikus dengan ketebalan 2 cm. Pengantian sekam dan pencucian kandang dilakukan sebanyak dua kali dalam seminggu. Pemberian pakan dan minum diberikan setiap hari. Temperatur ruangan berkisar antara 26-27°C.

Pengamatan hewan coba dilakukan dengan pengukuran tekanan darah tanpa anestesi menggunakan metode *tail-cuff auto-pickup*. Pengukuran dilakukan dua kali dalam seminggu menggunakan alat pengukur tekanan darah non invasif CODA®. Metode pengukuran tekanan darah non invasif dilakukan dengan manset ekor yang dinamakan *cuff* terdapat *Volume Pressure Recorder (VPR) cuff* dan *occlusion cuff*. Restrain tikus dilakukan di tempat khusus menggunakan *animal holders*. Pengukuran tikus terlebih dahulu dihangatkan dengan suhu 37°C pada *warming pad* sampai suhu tikus mencapai suhu optimum. Peralatan yang digunakan dan proses pengukuran tekanan darah tikus disajikan pada Gambar 1.

Occlusion cuff menggunakan karet disposibel yang dipasang pertama pada ekor tikus, kemudian diikuti dengan *VPR cuff* sebagai detektor denyut. *Cuff* secara otomatis akan mengembang menekan ekor tikus yang dialiri darah dan denyut aliran darah akan terdeteksi. Denyut yang terukur merupakan tekanan darah sistolik tikus. Setiap pengukuran dilakukan sepuluh kali pengulangan untuk masing-masing hewan coba yang kemudian diambil rata-ratanya. Pengukuran tekanan darah mengukur enam parameter darah secara bersamaan yaitu tekanan darah sistolik, tekanan darah diastolik, tekanan arteri rata-rata, denyut jantung, volume darah, dan aliran darah pada ekor.



Gambar 1 Alat pengukur tekanan darah yaitu laptop (a), warming pad (b), animal holder (c), occlusion cuff (d) dan VPR cuff (d2), alat tekanan darah CODA[®] (e) dan proses pengukuran tekanan darah (f)

Analisis Data

Hasil parameter yang diukur dinyatakan dengan rata-rata tekanan darah. Hasil pengukuran tekanan darah tiap tikus diuji dengan analisis sidik ragam (ANOVA-Analysis of Variance) serta dilakukan dengan uji lanjut yaitu Duncan menggunakan program SAS 9.1.3.

HASIL

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai profil tekanan darah sistolik, diastolik, dan tekanan arteri rata-rata pada galur Sprague-Dawley (SD) lebih tinggi secara signifikan ($P < 0.05$) dibandingkan dengan galur Wistar. Hasil dari rata-rata denyut jantung dan aliran darah pada galur SD menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) dibandingkan galur Wistar. Hasil pengukuran tersebut disajikan

pada Tabel 1. Hasil penelitian ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa galur Wistar memiliki aktivitas kardiovaskular yang rendah (Malkester et al., 2006).

Data tekanan darah normal (normotensi) pada tikus putih yaitu tekanan darah sistolik 129 mmHg, diastolik 90 mmHg, dan denyut jantung 350-450 mmHg (KSC, 2008). Nilai profil tekanan darah galur Wistar termasuk dalam rentang normal berdasarkan data normotensi. Galur SD menunjukkan profil tekanan darah yang lebih tinggi dibandingkan data normotensi namun masih dalam rentang normal.

Profil tekanan darah tikus putih jantan pada kedua galur memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan betina. Nilai profil tekanan darah diastolik dan tekanan arteri rata-rata pada galur SD jantan lebih tinggi dengan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$) dibandingkan betina (Tabel 2). Galur Wistar jantan memiliki kecenderungan nilai profil tekanan

Tabel 1 Rataan nilai profil tekanan darah normal pada galur SD dan Wistar

	Pengamatan				
	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)	Tekanan arteri (mmHg)	Denyut jantung (kali/menit)	Aliran darah (mL/menit)
SD	136.98 ± 16.49 ^a	103.55 ± 17.04 ^a	114.32 ± 16.54 ^a	347.20 ± 3.65 ^a	19.70 ± 6.75 ^a
Wistar	121.54 ± 14.29 ^b	86.65 ± 11.74 ^b	97.94 ± 12.43 ^b	355.42 ± 8.54 ^a	20.17 ± 4.20 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan data yang berbeda nyata ($P < 0.05$).

Tabel 2 Rataan nilai profil tekanan darah pada galur SD betina dan jantan

	Pengamatan				
	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)	Tekanan arteri (mmHg)	Denyut jantung (kali/menit)	Aliran darah (mL/menit)
SD Betina	127.97 ± 16.34 ^a	92.47 ± 13.97 ^a	103.94 ± 14.33 ^a	349.78 ± 11.50 ^a	14.91 ± 6.74 ^a
SD Jantan	145.98 ± 11.91 ^a	114.64 ± 12.31 ^b	124.71 ± 11.86 ^b	344.62 ± 11.39 ^a	24.47 ± 5.06 ^a

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan data yang berbeda nyata ($P < 0.05$).

Tabel 3 Rataan nilai profil tekanan darah pada galur Wistar betina dan jantan

	Pengamatan				
	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)	Tekanan arteri (mmHg)	Denyut jantung (kali/menit)	Aliran darah (mL/menit)
Wistar Betina	116.86 ± 10.47 ^a	83.50 ± 7.37 ^a	94.27 ± 8.13 ^a	361.46 ± 11.10 ^a	17.20 ± 6.86 ^a
Wistar Jantan	126.22 ± 17.18 ^a	89.81 ± 15.2 ^a	101.60 ± 15.76 ^a	349.38 ± 23.88 ^a	23.15 ± 15.51 ^a

Keterangan: Huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan data yang tidak berbeda signifikan ($P > 0.05$).

darah yang lebih tinggi dibandingkan betina akan tetapi menunjukkan data yang tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) disajikan pada Tabel 3.

PEMBAHASAN

Nilai profil tekanan darah tikus putih galur Wistar jantan dan betina serta SD betina termasuk dalam rentang normal berdasarkan data normotensi. Galur SD jantan memiliki nilai profil tekanan darah yang tinggi dan termasuk dalam kategori hipertensi (Tabel 2). Tekanan darah sistolik hipertensi adalah diatas 145 sampai 200 mmHg (Krinke, 2000).

Faktor-faktor yang mempengaruhi tekanan darah antara lain umur, jenis kelamin, ras, dan hereditas (genetis). Seksual dimorfisme pada tekanan darah ditemukan secara umum pada semua jenis mamalia, yaitu jantan mempunyai tekanan darah yang lebih tinggi dan lebih mudah mengalami peningkatan dari pada betina (Liu & Ely, 2011). Jumlah hormon androgen pada jantan lebih tinggi dibandingkan betina yang mengakibatkan tekanan darah pada jantan lebih tinggi. Maranon dan Reckelhoff (2013), menyatakan bahwa hormon androgen dapat mengakibatkan penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular, termasuk hipertensi dan bila kadartestosteron yang tinggi maka dapat menyebabkan infark miokard lebih dini.

Penelitian dengan hewan coba tikus jantan hipertensi yang telah dikastrasi dan pada tikus betina hipertensi yang diberi perlakuan ovariectomi menunjukkan tidak adanya efek pada *pressure-natriuresis*. Pemberian testosteron jangka panjang

pada hewan coba tersebut memengaruhi *pressure-natriuresis* (Reckelhoff, 2001). Kunci utama dalam pengaturan *pressure-natriuresis* adalah sistem renin-angiotensin (RAS). Hormon androgen memengaruhi peningkatan tekanan darah melalui sistem RAS (Yanes et al., 2006).

Sistem RAS meningkatkan aktivitas renin yang akan mengaktifkan angiotensin II dan kemudian menghasilkan aldosteron sehingga terjadi peningkatan reabsorpsi natrium pada tubulus distal ginjal. Peningkatan tersebut dapat menyebabkan peningkatan tekanan darah (Kienitz & Quickler, 2008). Sistem RAS juga meningkatkan stres oksidatif yang menghasilkan senyawa penyebab vasokonstriksi dan penurunan ketersediaan nitrit oksida (Sartori et al., 2007).

Tikus putih betina pada kedua galur menunjukkan nilai profil tekanan darah yang lebih rendah dibandingkan jantan. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa kadar estrogen yang tinggi pada betina dapat memengaruhi tekanan darah. Tikus betina dengan hipertensi menunjukkan penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik setelah pemberian estrogen. Selain itu, terdapat efek vasodilatasi pada aorta tikus yang diberi 17 β -estradiol (Gruber et al., 2002).

Efek vasodilatasi terjadi karena estrogen berpengaruh terhadap ekspresi reseptor adrenergik- α_1 di otot polos pembuluh darah (Piascik & Perez, 2001). Pengendalian kontraktilitas pembuluh darah yang didominasi oleh sistem saraf simpatis bekerja melalui pelepasan neurotransmitter norepinefrin di ujung saraf dan berikatan dengan reseptor adrenergik- α_1 di otot polos pembuluh darah (Hoffman & Taylor, 2001).

Tabel 4 Rataan nilai profil tekanan darah pada galur SD jantan dan Wistar jantan

	Pengamatan				
	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)	Tekanan arteri (mmHg)	Denyut jantung (kali/menit)	Aliran darah (mL/menit)
SD Jantan	145.98 ± 11.91 ^a	114.64 ± 12.31 ^a	124.71 ± 11.86 ^a	344.62 ± 11.39 ^a	18.22 ± 8.54 ^a
Wistar Jantan	126.22 ± 17.18 ^a	89.81 ± 15.20 ^b	101.6 ± 15.76 ^b	349.38 ± 23.88 ^a	21.66 ± 16.81 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan data yang berbeda nyata ($P < 0.05$).

Tabel 5 Rataan nilai profil tekanan darah pada galur SD betina dan Wistar betina

	Pengamatan				
	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)	Tekanan arteri (mmHg)	Denyut jantung (kali/menit)	Aliran darah (mL/menit)
SD Betina	127.97 ± 16.34 ^a	92.47 ± 13.96 ^a	103.93 ± 14.32 ^a	349.78 ± 11.50 ^a	10.06 ± 8.53 ^a
Wistar Betina	116.86 ± 10.47 ^a	83.50 ± 7.37 ^a	94.27 ± 8.13 ^a	361.46 ± 11.10 ^a	12.93 ± 6.28 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan data yang tidak berbeda signifikan ($P > 0.05$).

Pemberian 17 β -estradiol akan menurunkan densitas reseptor tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa estrogen mempunyai efek dilatasi pada pembuluh darah (Nurdiana, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai tekanan darah diastolik dan tekanan arteri rata-rata pada galur yang berbeda dengan jenis kelamin yang sama yaitu SD jantan dan Wistar jantan menunjukkan data yang berbeda nyata ($P < 0.05$) tersedia pada Tabel 4. Nilai profil tekanan darah pada SD betina dan Wistar betina menunjukkan data yang tidak berbeda signifikan ($P > 0.05$) tersedia pada Tabel 5.

Tikus putih galur SD merupakan galur yang dikembangkan dari galur Wistar, galur ini tumbuh lebih cepat yaitu dengan pertambahan bobot badan yang dapat mencapai 400 gram selama 12 minggu sedangkan galur Wistar hanya mencapai 350 gram (Suckow et al., 2006). Pertambahan bobot badan merupakan faktor risiko dari penyakit kardiovaskular seperti hipertensi (Harsha & George, 2008), hal ini yang dapat menyebabkan tingginya profil tekanan darah pada galur SD.

Penelitian mengenai kardiovaskular memerlukan pertimbangan dalam pemilihan hewan coba karena terdapat interaksi antara faktor perbedaan galur dan jenis kelamin. Faktor tersebut memberikan pengaruh nyata terhadap profil tekanan darah. Galur SD memiliki profil tekanan darah yang lebih tinggi dibandingkan Wistar terutama pada SD jantan yang dapat dikategorikan hipertensi. Galur Wistar menunjukkan hasil pengukuran parameter yang termasuk normotensi serta tidak adanya perbedaan signifikan antara jantan dan betina. Hal ini dapat

dijadikan pertimbangan dalam penggunaangalur tikus putih sebagai hewan coba untuk penyakit kardiovaskular, terutama bila dalam suatu kelompok percobaan terdapat keragaman galur dan jenis kelamin.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. 2002. Production and Action of Estrogens. *New England Journal of Medicine*. 346:340-352.
- Harsha DW, George AB. 2008. Weight loss and blood pressure control (pro). *Hypertension*. 51:1420-1425.
- Hau J, Hoosier Jr L. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Science*. 2nd ed. CRC Press. London (UK). 1-9.
- Hoffman BB, Taylor P. 2001. *Neurotransmission: The Autonomic and Somatic Motor Nervous System*. 10th ed. The McGraw-Hill Companies. New York (USA). 115-155.
- Iannaccone PM, Jacob HJ. 2009. Rats!. *Disease Models and Mechanisms*. 2:206-210.
- Johnson Mary. 2012. Labome: Laboratory Mice and Rats. <http://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>. Download: November 18, 2015.
- [KEPK] Komisi Etik Penelitian Kesehatan. Pedoman Operasional Komisi Etik Penelitian Kesehatan (PO KEPK). 2007. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta (ID).

- Kienitz T, Quickler M. 2008. Testosterone and blood pressure regulation. *Kidney Blood Pressure Research*.31:71–79.
- [KNEPK] Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan. Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan Suplemen II: Etik Penggunaan Hewan Percobaan. 2006. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta (ID).
- Krinke GJ. 2000. *The Laboratory Rat*. California (USA): Academic Pr. 345-355
- [KSC] Kent Scientific Corporation. 2008. What is the Normal Range for Blood Pressure in Mice and Rats?. [diunduh 2016 Mar 13]. Tersedia pada: www.kentscientific.com/Products/Specs/SpecPopUp.htm. Download: Maret 13, 2016.
- Liu B, Ely D. 2011. Testosterone increases: sodium reabsorption, blood pressure, and renal pathology in female spontaneously hypertensive rats on high sodium diet. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2011:1-8.
- Malkesman O, Braw Y, Maayan R, Weizman A, Overstreet DH, Shabat-Simon, Kesner, Touati-Werner, Yadid G, Weller A. 2006. Two different putative genetic animal models of childhood depression. *Biological Psychiatry*. 59:17-23.
- Maranon R, Reckelhoff JF. 2013. Sex and gender difference in control of blood pressure. *Clinical Science*.125:311-318.
- Nurdiana. 2008. Efek 17-estradiol terhadap densitas reseptor adrenergik- α_{1d} dan kontraktilitas otot polos pembuluh darah tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 24:1-10.
- Piascik MT, Perez DM. 2001. α_1 -Adrenergic receptor: new insight and directions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 298:403-410.
- Reckelhoff JF. 2001. Gender Differences in the Regulation of Blood Pressure. *Hypertension*. 37:1199-1208.
- Sartori-Valinotti JC, Iliescu R, Fortepiani LA, Yanes LL, Reckelhoff JF. 2007. Sex differences in oxidative stress and the impact on blood pressure control and cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*.34:938–45.
- Sherwood Lauralee. 2007. *Human Physiology: From Cells To Systems*. 6th ed. Brooks/Cole Press. California (USA). 382-384.
- Suckow MA, Steven HW, Craig LF. 2006. *The Laboratory Rat*. 2nd Edition. Academic Pr. California (USA). 71-91.
- Yanes LL, Romero DG, Iles JW, Iliescu R, Gomez-Sanchez C, Reckelhoff JF. 2006. Sexual dimorphism in the renin-angiotensin system in aging spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative*. 291:383–90.